Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

**Research Article**
**Vol. 39, No. 1, 2025, p. 61-83**

# Control of Tomato Early Blight (*Alternaria solani*) Disease by Aqueous Extract of Thyme (*Thymus vulgaris*)

**A. Gholamzadeh-Bazar Bash[1], S. Qoli Tolouie[2], T. Allahverdipour[3], M. Salehzadeh[4*]**

1, 2 and 3- Department of Plant Protection, College of Agriculture, Afaq Institute of Higher Education, Urmia, Iran
4- Plant Virology Research Center, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
(*- Corresponding author's Email: mehrdadsalehzadeh@hafez.shirazu.ac.ir)

| Received: 07-04-2024<br>Revised: 19-01-2025<br>Accepted: 25-01-2025<br>Available Online: 29-04-2025 | **How to cite this article:**<br>Gholamzadeh-Bazar Bash, A., Qoli Toloui, S., Allahverdipour, T., & Salehzadeh, M. (2025). Control of tomato early blight (*Alternaria solani*) disease by aqueous extract of thyme (*Thymus vulgaris*). *Iranian Plant Protection Research*, *39*(1), 61-83. (In Persian with English abstract).<br>https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183 |
|---|---|

## Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is the second most valuable agricultural product after potatoes. Early blight, caused by *Alternaria solani*, is a major disease affecting tomatoes, damaging stems, leaves, and fruits. This disease significantly reduces photosynthesis and can lead to leaf drop in severe cases across tomato-growing regions in Iran. Common control methods often involve chemical pesticides, but their excessive use can result in environmental pollution, pathogen resistance, and the emergence of dangerous strains, exacerbating the damage. As a safer alternative, researchers have increasingly focused on using natural compounds, or phytometabolites, for pest and pathogen management. Plant biocides offer numerous advantages, including rapid decomposition, specific toxicity, reduced bioaccumulation, and minimal harm to beneficial insects. This study aims to evaluate the effectiveness of thyme extract in managing tomato spot disease as a substitute for chemical pesticides, alongside an assessment of morphological and physiological characteristics in infected versus healthy plants.

## Materials and Methods

Five fungal isolates were collected from tomato fields in various locations of West Azarbaijan province. Extraction and isolation of *A. solani* followed the Rigotti method (2003), while DNA extraction and PCR were conducted using Ji Cho's method (2016), with the amplified fragments subsequently sequenced. A phylogenetic tree was created using Mega 8 software, positioning the Iranian isolate alongside Asian *A. solani* isolates. Thyme extract's effect on fungal colony growth was tested in the lab, and pathogenicity was assessed on tomato variety 4129. Morphological traits, including plant and root length and biomass, along with physiological traits such as chlorophyll content and the expression of defense genes (*CAT, APX*, *POD*), as well as phenol and flavonoid levels were measured for UrmiaB isolate, as the most virulent among the collected isolates.

## Results and Discussion


https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183

All concentrations of thyme extract tested in this research exhibited significant inhibitory and antifungal effects at both 1% and 5% probability levels compared to the controls. Additionally, thyme extract showed moderate to high antifungal activity against *A. solani*, both in laboratory and greenhouse settings. In laboratory trials, thyme concentrations of 50, 100, and 150 mg $mL^{-1}$ markedly reduced fungal growth, particularly at higher concentrations (100 and 150 mg $mL^{-1}$), which also corresponded with a decrease in pathogenicity affecting tomato fruits of cultivar 4129. Morphological and physiological assessments indicated that thyme extract improved traits in tomato variety 4129, including root and shoot lengths, biomass, chlorophyll content, and the expression of defense-related enzymes (*CAT*, *APX*, *POD*), as well as phenolic and flavonoid levels under greenhouse conditions. These findings demonstrate that thyme extract effectively mitigates early blight disease in tomatoes by inhibiting fungal growth.

**Conclusion**

The results indicated that thyme extract effectively reduced the activity of the pathogen responsible for tomato early blight in both laboratory and greenhouse conditions. Its antifungal properties make thyme extract a promising candidate for commercialization in agricultural pest management, particularly when used in combination with other compounds.

**Keywords**: Antifungal properties, Early blight, Morpho-physiological traits, Plant metabolite

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۹ شماره ۱، بهار ۱۴۰۴، ص. ۸۳-۶۱

# مهار لکه موجی گوجه‌فرنگی (*Alternaria solani*) با استفاده از عصاره آبی آویشن (*Thymus vulgaris*)

**علی غلامزاده بازار باش [۱]- سحر قلی طلوعی [۲]- توحید الهوردی پور [۳]- مهرداد صالح زاده [۴]***

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶


## چکیده

در این بررسی، اثر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آویشن در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای روی قارچ بیمارگر *Alternaria solani*، عامل بیماری بلایت زودرس گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی غلظت‌های عصاره آویشن مورد استفاده در این تحقیق هر یک نسبت به تیمار کنترل مثبت خود خاصیت بازدارندگی و ضدقارچی در سطح احتمال پنج درصد نشان دادند. همچنین در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، عصاره آویشن وابسته به غلظت، خاصیت ضدقارچی متوسط به بالایی علیه بیمارگر *A. solani* داشت. زمانی‌که قارچ بیمارگر در روش‌های آزمایشگاهی و کشت در پتری‌دیش، تحت تیمار با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آویشن قرار گرفت، میزان رشد قارچ مخصوصاً در تیمار غلظت‌های بالا (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاهش چشمگیری پیدا کرد و به دنبال آن شدت بیماری‌زایی نیز وابسته به غلظت در میوه‌های گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ کاهش یافت. بررسی صفات موفو-فیزیولوژیک نشان داد که عصاره آویشن وابسته به غلظت منجر به بهبود صفات مذکور در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ شامل: طول ریشه و شاخسار، وزن تر و خشک ریشه و شاخسار، افزایش محتوای کلروفیل بوته، افزایش بیان برخی آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، پراکسیداز، فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت شرایط گلخانه‌ای شد. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آویشن روی قارچ بیمارگر عامل بلایت زودرس گوجه‌فرنگی تحت شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی به‌خوبی تأثیر گذاشته و باعث کاهش رشد قارچ و متعاقب آن کاهش میزان شدت بیماری شده است. قابلیت ضدقارچی عصاره آویشن بر روی بوته‌ها در کشت آزاد و گلخانه‌ای و همچنین میوه‌ها در شرایط انباری می‌تواند، این ترکیب را بعنوان یک پادزیست گیاهی مناسب برای مطالعه روی سایر بیمارگرهای گیاهی و تجاری‌سازی این محصول معرفی نماید.


**واژه‌های کلیدی:** بلایت زودرس، خواص ضدقارچی، صفات مورفو-فیزیولوژیکی، متابولیت گیاهی

## مقدمه

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* شناخته شده است. گوجه‌فرنگی بعد از سیب‌زمینی دومین محصول پر ارزش کشاورزی محسوب می‌گردد. از کل تولید گوجه‌فرنگی دنیا در سال ۲۰۲۱ که حدود ۱۶۵/۲۶۶ میلیون تن بوده است، حدود ۳۹/۱۴۴ میلیون تن در چین و ۲۲/۸۶۷ میلیون تن در ایالات متحده تولید شده است، که در این میان، میزان تولید در ایران تنها ۷/۲ میلیون تن می‌باشد (Liu *et al*., 2022). طبق گزارش سازمان FAO در سال ۲۰۱۸، سطح زیرکشت این محصول در دنیا و ایران به‌ترتیب ۴۸۰۴۶۸۰ و ۱۶۰۰۰۰ هکتار می‌باشد (Fatemi *et al*., 2024).

بیماری لکه‌موجی یا بلایت زودرس (Early blight) با عامل *Alternaria solani* یکی از بیماری‌های مهم در گوجه‌فرنگی در ایران و سراسر دنیا می‌باشد. این بیماری به ساقه، برگ و میوه گوجه-فرنگی خسارت وارد می‌کند. تقریباً در تمام مناطق ایران که تحت کشت گوجه‌فرنگی هستند، بیماری لکه‌موجی گسترش داشته و سطح فتوسنتزکنندگی گیاه را شدیداً کاهش می‌دهد و به‌دنبال آن ریزش برگ‌های گیاه (در مواردی که شدت بیماری بالا باشد)، مشاهده می-گردد. با توجه به اینکه بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی به تمام قسمت

۲،۱ و ۳- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، مؤسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران
۴- مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
(*- نویسنده مسئول:
Email: mehrdadsalehzadeh@hafez.shirazu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183

های هوایی گیاه خسارت وارد می‌کند و منجر به آسیب کمّی و کیفی روی میوه می‌شود، از مهم‌ترین بیمارگرهای قارچی گوجه‌فرنگی محسوب می‌گردد (Haghpanah *et al.*, 2023). *Alternaria* با فرم جنسی Lewia در سال ۱۸۸۲ برای اولین‌بار توسط الیس و مارتین از روی برگ‌های خشک‌شده سیب‌زمینی در کلکسیون نیوجرسی جداسازی و شناسایی شد و در سال ۱۸۹۶ بیماریزایی آن به اثبات رسید. ایشان عامل این بیماری را *Alternaria solani* نام‌گذاری کردند (Narware *et al.*, 2023). *Alternaria* spp. متعلق‌به شاخه Ascomycota، زیرشاخه Pezizimycotina، رده Dothideomycete، زیررده Pleosporemycetidae، راسته Pleosporales و خانواده Pleosporaceae است. این جنس نزدیک به ۱۰۰ گونه داشته که در سراسر دنیا و در مناطق متنوع اکولوژیکی حضور داشته و اغلب بیماری‌های شدیدی روی محصولات کشاورزی ایجاد می‌نمایند. گونه‌های این جنس به‌صورت ساپروفیت یا بیمارگر ضعیف قادر به بقاء و ادامه چرخه زندگی هستند (Nejhad *et al.*, 2024). *Alternaria* توانایی رشد در دامنه وسیعی از دماها از ۵ تا ۳۶ درجه سیلسیوس را دارد. این قارچ برای ایجاد آلودگی، به دوره کوتاهی از رطوبت نیاز دارد.

یکی از روش‌های متداول مهار بیماری‌های گیاهی، استفاده از سموم و ترکیبات شیمیایی است. استفاده بیش از حد و مداوم از ترکیبات و سموم شیمیایی باعث آلودگی‌های زیست‌محیطی، ایجاد مقاومت در عوامل بیمارگر گیاهی، ایجاد سویه‌های خطرناک از بیمارگرها و در نهایت، منجر به افزایش شدت خسارت در محصولات کشاورزی می‌گردد. یکی از روش‌های کاهش این مخاطرات، استفاده از ترکیبات طبیعی یا فیتومتابولیت‌ها در مهار اقتصادی آفات و بیمارگرهای گیاهی می‌باشد. ازاین‌رو در سال‌های اخیر، محققان بسیاری به مطالعه اثرات ضدقارچی و زیست‌پادی عصاره‌های مختلف گیاهی در مدیریت عوامل بیماریزای گیاهی پرداخته‌اند. زیست‌پادها، اغلب دارای دوره کارنس کمتری بوده، باقی‌مانده‌های سمی روی محصولات نداشته، دارای رایحه قوی بوده و به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم (بهبود صفات مورفو-فیزیولوژیکی) در مدیریت پایدار بیمارگرهای گیاهی نقش دارند. پادزیست‌های گیاهی به‌دلیل تجزیه سریع، سمیّت کمتر، عملکرد اختصاصی، تجمع زیستی پایین، طیف عملکردی بالا و کاهش آسیب بر محیط‌زیست و حشرات مفید، در حال گسترش و تجاری‌سازی هستند. امّا با وجود مزیت‌های اشاره‌شده، محدودیت‌هایی مانند پایداری پایین، عدم سیستمیک شدن و نفوذ به گیاه، تجزیه در مقابل شرایط محیطی و شیمیایی (رطوبت، pH، اکسیژن، نور و تبخیر) را نیز دارند (Farashah Serag *et al.*, 2023; & Salehzadeh, 2023). با توجه به اهمیت پادزیست‌های گیاهی در مهار بیمارگرهای مهم گیاهی، اهداف این تحقیق شامل کاربرد عصاره آویشن برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی به‌جای کاربرد سموم و ارزیابی صفات مورفو-فیزیولوژیکی گیاهان آلوده به قارچ در مقایسه با گیاهان سالم و گیاهان کنترل مثبت (تلقیح شده فقط با قارچ) می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه کارشناسی ارشد دانشگاه غیرانتفاعی آفاق ارومیه صورت پذیرفت. جهت انجام این تحقیق، تعداد پنج جدایه قارچی از مناطق مختلف استان آذربایجان‌غربی و از مزارع گوجه‌فرنگی جمع‌آوری گردید و پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و گلخانه، کارهای جداسازی و تلخیص *A. solani* صورت گرفت.

### جداسازی، تلخیص و آزمون بیماری زایی جدایه‌ها

جدایه‌های مختلف این قارچ روی محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) کشت شدند. در ادامه، طول ابعاد کنیدی، کنیدیوفور، شکل و رنگ پرگنه قارچ مورد بررسی قرار گرفت. آزمون بیماری‌زایی مطابق روش ریگوتی و همکاران در سال ۲۰۰۳ (Rigotti *et al.*, 2003) روی بوته‌ها با سه تکرار (هر تکرار شامل سه میوه) و یک جدایه خالص قارچی انجام شد.

### شناسایی و تفریق جدایه‌های *آلترناریا* براساس روش‌های ملکولی

#### استخراج دی.ان.ای و بررسی کیفیت آن

روش استخراج براساس روش جی چوی و همکاران (ji Cho *et al.*, 2016) با کمی تغییران صورت گرفت. غلظت (کمیت) دی.ان.ای، به‌وسیله اسپکتروفوتومتری با جذب فرابنفش با طول موج ۳۴۰ نانومتر (Thermo Scientific NanoDrop™ 8000 Multi-Sample Micro-Volume UV-Vis Spectrophotometer) اندازه‌گیری شد.

#### واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

برای انجام مراحل PCR، از مواد و محلول‌هایی استفاده شد که امروزه به‌صورت کیت‌های تجاری در دسترس هستند (کیت استخراج DNA، شرکت سیناکلون). آغازگرهای سنتزشده از شرکت متابیون آلمان تهیه شد. آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه که جهت تکثیر ناحیه بین ژنی یا ITS (Kasahara *et al.*, 2010) به کار برده شده‌اند عبارتند از:

ITS۱: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G

ITS۴: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

به‌طور کلی، جهت انجام واکنش PCR، در یک واکنش ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (شرکت دنازیست)، دو میکرولیتر آغازگر (از هر آغازگر رفت و برگشتی)، دو میکرولیتر دی.ان.ای، ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل (شرکت دنازیست) انجام شد. سیکل حرارتی مناسب روی دستگاه تنظیم و واکنش پی.سی.آر شامل مرحله واسرشت‌سازی اولیه DNA ژنومی (۹۰۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، یک مرتبه)، واسرشت‌سازی (۹۴ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه، ۲۳ مرتبه)، اتصال آغازگر به رشته الگو (۵۶/۴ درجه سلسیوس، ۹۰ ثانیه، ۲۳ مرتبه)، گسترش رشته جدید (۷۲ درجه سلسیوس، ۹۰ ثانیه) و گسترش نهایی (۷۲ درجه سلسیوس، ۶۰ ثانیه، یک مرتبه) شروع شد.

## تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS حاصل از پی.سی.آر

در این مرحله، ۳۰ میکرولیتر از محصول PCR و قطعات ITS۱/ITS۴ حاصل از تکثیر در میکروتیوپ‌های ۰/۵ میکرولیتری به شرکت زیست‌فن‌آوری پیشگام جهت تعیین توالی دوطرفه فرستاده شد. نتایج تعیین توالی با برنامه Bioedit و Finch TV بررسی شدند. توالی‌های حاصل از ویرایش با قطعات مشابه ثبت‌شده در بانک جهانی ژن (NCBI) مطابقت داده شد. گونه‌ها و جدایه‌هایی که دارای بیشترین تشابه در توالی نوکلئوتیدی با توالی مورد نظر را داشتند، انتخاب شدند و به‌فرم FASTA ذخیره شدند، سپس اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار MEGA0.8 (Tamura *et al.*, 2007) بررسی شد و ارتباط تبارزایی بین جدایه‌های *آلترناریا* جداسازی شده ایرانی با سایر جدایه‌ها تعیین شد.

## آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

پس از خالص‌سازی و نگهداری جدایه‌ها، آزمون بیماری¬زایی جدایه‌های موجود روی میوه گوجه‌فرنگی انجام شد. در این آزمون، براساس مقایسه میانگین و محاسبه میانگین قطر لکه‌های بافت‌مرده حاصل از تلقیح میوه با جدایه‌های مختلف قارچی، بیماری‌زایی جدایه‌های مورد آزمایش مقایسه شده و قوی‌ترین جدایه از نظر بیماری¬زایی برای انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.

تهیه فرموالسیون‌های قارچ جمعیت ۱۰^۸ اسپور فعال در هر میلی‌لیتر تهیه شده از کشت ۵ روزه در محلول Nutrient Broth برای تهیه مایه تلقیح قارچ (۵۰٪ W/V) استفاده شد و ترکیبات چسباننده و حمل‌کننده برای این فرمولاسیون با روش بهرامی‌نژاد و همکاران (Bahraminejad *et al.*, 2016) انتخاب و استفاده شدند. از سوسپانسیون اسپور با جمعیت ۱۰^۸ اسپور هر یک از جدایه‌های مورد مطالعه در هر میلی‌لیتر برای تهیه فرموالسیون گرانول، با روش فراول و همکاران (Fravel *et al.*, 2005) استفاده شد. برای تهیه فرموالسیون پودر از پودر تالک و کشت جامد هر یک از جدایه‌ها با جمعیت ۱۰^۸ اسپور در میلی‌متر مکعب استفاده شد.

## بررسی تأثیر آزمایشگاهی عصاره آویشن بر پرگنه قارچ *A. solani*

برای بررسی تأثیر عصاره آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار (اسانس آویشن ۹۰ درصد، شرکت نیکوشیمی) در بازدارندگی از رشد قارچی *A. solani* از محیط کشت PDA استفاده شد. سه حلقه از پرگنه قارچ به قطر یک سانتی‌متر از محیط کشت PDA سه روزه از جدایه *A. solani* در محیط کشت مایع زاپکس (دنازیست) در داخل شیکر چرخان (۱۰۴ دور در دقیقه) به‌مدت هفت روز در دمای ۲۳-۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس محتویات ارلن به‌وسیله میلی‌پور و میکرو خلاء و با استفاده از میکروفیلترهای ۰/۲۲ صاف شده و عصاره *A. solani* تهیه شد. عصاره *A. solani* در این تحقیق با غلظت‌های ۱۰^۸ اسپور در هر میلی‌لیتر استفاده شد. محیط در پتری‌های استریل ریخته شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت و اطمینان از عدم آلودگی محیط‌ها، حلقه‌های میسیلیومی به قطر پنج میلی‌متر از محیط کشت پنج روزه *A. solani* در مرکز پتری‌های حاوی غلظت‌های مختلف آویشن قرار گرفت. برای هر غلظت آویشن، سه تکرار در نظر گرفته شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل دوعاملی (گونه *A. solani* و غلظت عصاره‌ها) با سه تکرار، ۷۲ ساعت پس از کشت قارچ *A. solani* انجام شد. تمامی تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند. در هر مورد سطح بازدارندگی توسط معادله ۱ (Dev *et al.*, 2004) محاسبه شد. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف آویشن بر رشد قارچ عامل *A. solani* در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و نتایج شش روز بعد از رشد قارچ به‌وسیله معادله ۲ ثبت و اندازه‌گیری شد.

$$IP = (C - T)/C \times 100 \quad \text{(\% بازدارندگی)} \qquad (۱)$$

## بررسی تأثیر عصاره آویشن در برخی ویژگی‌های رویشی گوجه‌فرنگی آلوده به *A. solani* در شرایط گلخانه ای

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار شامل سه سطح عصاره آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و یک رقم گوجه‌فرنگی (۴۱۲۹) در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. زمانی‌که نشاءها به مرحله چهار برگی حقیقی رسیدند، با قارچ خالص‌شده *A. solani* با غلظت ۱۰^۸ اسپور فعال در هر میلی‌لیتر مایه‌زنی شده و ۴۸ ساعت بعد، عصاره آویشن با غلظت-های مذکور به گیاه محلول‌پاشی شدند. پس از گذشت ۲۰ روز از اعمال تیمارها (۲۰dpi) و شاخص‌های رویشی گیاه (مانند طول و قطر ساقه، طول میان‌گره، تعداد شاخه‌های جانبی، طول و وزن تر و خشک

ریشه) و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه (بررسی محتوای کلروفیل کل، فنل و فلاونوئید کل، آنزیم پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) اقدام به نمونه‌برداری و اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل پس از ۶، ۱۲ و ۱۸ روز پس از تیمار ترکیبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 25.0 (Abu-Bader, 2021) تجزیه و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی ( the Tukey multiple comparison statistic) (Driscoll, 1996) انجام شد. نمودارهای مربوطه نیز با نرم‌افزار Genex6 (He *et al.*, 2016) ترسیم شدند.

### اندازه‌گیری شدت بیماری

شدت علائم به‌صورت درصدی از برگ‌های بیمار بیان گردید (Sudhakar *et al.*, 2007). در این روش، براساس شدت بیماری و علائم برگی ناشی از آن، کدهایی به‌صورت اعداد ۵-۰ در نظر گرفته شد، به‌طوری‌که عدد صفر برگ‌های گوجه‌فرنگی فاقد علائم قارچی و اعداد بالاتر بیانگر افزایش شدت علائم قارچی روی برگ را نشان می‌دادند. سپس توسط معادله ۲ (Sudhakar *et al.*, 2007) شدت بیماری (DS) در زمان‌های ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی (dpi) انجام گرفت.

(۲)

$$DS = \frac{\text{کد بیماری هر برگ} \times \text{مجموع تعداد نمونه برگ}}{\text{تعداد نمونه‌های برگ} \times \text{حداکثر کد بیماری مشاهده شده طی آزمایش}}$$

به‌منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، نمونه‌برداری از برگ‌های بالایی بوته (تیمارشده) در ۱۲ dpi انجام گرفت.

### اندازه‌گیری کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری کلروفیل در ۱۲ dpi از روش لیشتن تالر و ولبورن (Lichtenthaler & Wellburn, 1983) استفاده شد. طول موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل براساس معادله‌های ۳ زیر محاسبه شد (Lichtenthaler & Wellburn. 1983).

Chlorophyll a (µg /ml)= 12.21 ($A_{663}$) – 2.81 ($A_{646}$)  (۳)

Chlorophyll b (µg /ml)= 20.13 ($A_{646}$) – 5.03 ($A_{663}$)

از گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به *A. solani* (تیمار نشده با عصاره آویشن) و گیاهان سالم به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد.

### سنجش آنزیم پراکسیداز (POD)

سنجش آنزیم پراکسیداز در ۱۲ dpi با روش همدا و کلاین (Hemeda & Kelin, 1990) صورت گرفت، تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در مدت ۶۰ ثانیه با فواصل زمانی در سه قرائت ثبت‌شده و در نهایت، فعالیت آنزیم پراکسیداز برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ارائه شد (Abdelgawad *et al.*, 2015).

Activity (u / ml) = Δ A 290x 0/5 x Vt x df / εl x t x Vs  (۴)

که در آن، ضریب مولکولی اجزاء واکنش Vt= ۰/۵ حجم مخلوط واکنش، Df: فاکتور رقیق‌کننده (آب مقطر استریل)، Vs: حجم عصاره آنزیمی، ε: ضریب خاموشی ($8\ mM^{-1}cm^{-1}$) و l: طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش است.

### بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز (کاتالاز)

در این پژوهش، اثر تیمار عصاره آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار روی آنزیم‌های کاتالاز (کاتالاز) در بوته‌های گوجه‌فرنگی آلوده به *A. solani*، ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی عصاره آویشن براساس روش چنس و ملی (Chance & Maehly, 1955) مورد-ارزیابی قرار گرفت. میزان فعالیت کاتالاز با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد:

فعالیت کاتالاز =(ΔA 470 nm ×1000×2)/X  (۵)

که در آن، ΔA 470 nm: تغییرات میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر و X: ضریب خاموشی (Extinction coefficient) می‌باشد که برابر ۲۶/۶ است.

## آنالیز آماری

آزمایش‌ها برای هر نمونه در سه تکرار مستقل انجام شده و داده‌های حاصل از تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 25 تجزیه و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال یک و پنج درصد بررسی شد.

## نتایج

### شناسایی ریخت‌شناختی قارچ *A. solani*

در جدایه‌های جمع‌آوری‌شده، فرم‌های رشد جدایه‌های جمع‌آوری شده از لحاظ اسپوردهی متعدد و انبوه و رشد میسلیومی بسیار زیاد و پرگنه‌های خاکستری تا زیتونی با رشد سریع حاصل شد. سطح پرگنه، کرکی و پرزدار به نظر می‌رسید. مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که هیف‌ها قهوه‌ای و دیواره‌دار بوده که کنیدیوفورها را تشکیل می‌دهند و کنیدیوفورها هم دیواره‌دار هستند. کنیدی‌ها بزرگ، کشیده، به‌صورت منفرد، نوک آن‌ها چماغی بوده و طول کنیدی‌ها بین ۲۵ تا ۶۰ میکرومتر و عرض آن‌ها سه تا شش میلی‌متر است ( Kumar *et al.*, 2008). (شکل-۱).

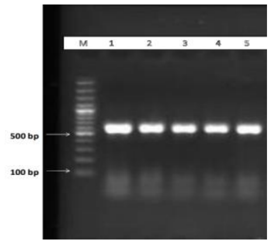


**شکل ۱**- کلنی ماکروسکوپی *Alternaria solani* در محیط کشت PDA و تصویر ریخت‌شناسی کنیدی‌های قارچ بیمارگر

**Figure 1**- *Alternaria solani* colony on PDA and conidia morphology.

## الکتروفورز محصولات پی.سی.آر جدایه‌های *آلترناریا سولانی*

با استفاده از آغازگرهای مذکور قطعاتی به‌طول ۵۷۰ جفت‌باز که مختص گونه‌های *A.solani* است، در ۵ جدایه مورد آزمایش در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شدند (شکل-۲).

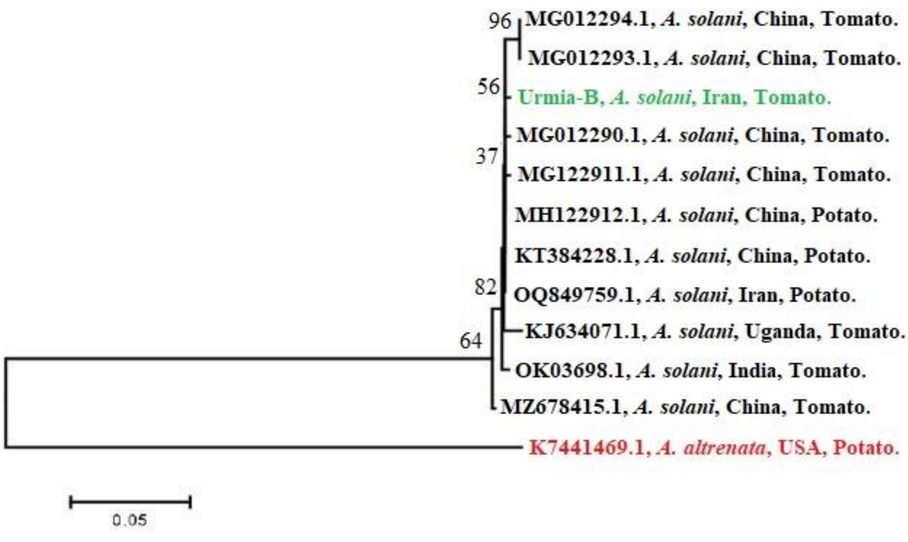



**شکل ۲**- نتیجه واکنش پی.سی.آر جدایه‌های قارچ *Alternaria solani* با آغازگرهای عمومی (ITS1, ITS4): مارکر ۱۰۰ bp

**Figure 2**- PCR products of *Alternaria solani* isolates using general primers ITS1/ITS4 (100 bp marker).

## نتایج حاصل از تعیین توالی نواحی ITS۱ و ITS۴ گونه‌های *آلترناریا* و آنالیز تبارزایی جدایه UrmiaB

در این مرحله، نتایج حاصل از توالی‌یابی به‌فرم FASTA ذخیره شدند و جدایه‌های منتخب ایرانی با توالی‌های مشابه موجود در پایگاه اطلاعات ژنومی با استفاده از نرم‌افزار Blastn مقایسه و بررسی شدند. درخت تبارنما برای جدایه UrmiaB (دارای بیشترین شدت بیماری بین جدایه‌ها) با استفاده از نرم‌افزار MEGA 0.8 با بوت استرپ ۵۰۰ براساس توالی ناحیه ITS۱/۴ ترسیم شد (شکل ۳). براساس درخت تبارنمای حاصل، جدایه UrmiaB در کنار جدایه‌های گونه‌های *آلترناریا سولانی* آسیایی (جدایه‌های چینی) قرار گرفتند. یک جدایه از گونه *A. alternata* نیز به‌عنوان out group انتخاب شدند (رنگ آبی) (شکل-۳).



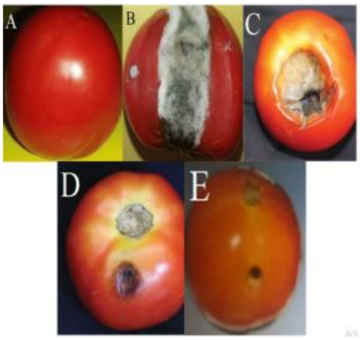

**شکل ۳**- درخت تبارزایی حاصل از توالی‌یابی قطعات مرتبط با بخشی از ناحیه ITS قارچ و مقایسه با جدایه‌های موجود در بانک ژن وترسیم درخت تبارزایی به‌روش Maximum likelihood با نرم‌افزار MEGA0.8

**Figure 3**-Phylogenetic tree of fungal ITS region fragments, constructed using the Maximum Likelihood method (MEGA0.8) and compared to gene bank isolates.

**جدول ۱**– آنالیز تجزیه واریانس میانگین شدت بیماری‌زایی *Alternaria solani* جدایه UrmiaB روی میوه‌ی گوجه‌فرنگی

**Table 1-** ANOVA of *Alternaria solani*-UrmiaB pathogenicity on tomato fruit

| تیمارها | میانگین شدت بیماری (٪) |
|---|---|
| Control treatment (distilled water + healthy plant) | 0 |
| Control treatment (distilled water + healthy plant) | 66/96±5.12 |
| 50 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml *Alternaria solani* isolate UrmiaB | 28/32±1.25 |
| 100 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml *Alternaria solani* isolate UrmiaB | 18/21±1.63 |
| 150 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml *Alternaria solani* isolate UrmiaB | 11/32±1.14 |




شکل ۴– خاصیت بازدارندگی عصاره آویشن بر روی میوه های گوجه فرنگی تلقیح شده با قارچ *A. solani* A:کنترل مثبت (گیاه سالم + آب مقطر)، B: کنترل مثبت (تلقیح‌شده فقط با قارچ *A. solani*)، C: تیمار ۵۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani*، D: تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani*، E: تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani* (تمامی تیمار A. solani با غلظت ۱۰^۸ اسپور در هر میلی لیتر انجام شده است).

**Figure 4**- illustrates the inhibitory effect of thyme extract on tomato fruits inoculated with *A. solani*. Treatments: A) Healthy control (distilled water only); B) *A. solani* control ($10^8$ spores/mL); C) *A. solani* ($10^8$ spores/mL) + 50 mM thyme extract; D) *A. solani* ($10^8$ spores/mL) + 100 mM thyme extract; E) *A. solani* ($10^8$ spores/mL) + 150 mM thyme extract.

### آزمون بیماری¬زایی جدایه‌ها

در این آزمایش، جدایه UrmiaB بیشترین اندازه لکه نکروتیک (۳/۰۸ سانتی‌متر) را ایجاد کرده و بنابر میانگین قطر لکه‌های نکروتیک ایجادشده، بیشترین شدت بیماری¬زایی را داشت (جدول ۱). با توجه به اینکه در ابتدای آزمایش‌های انجام‌شده، جدایه‌های موجود فقط شامل پنج جدایه مزرعه‌ای بود، میانگین قطر لکه نکروتیک روی میوه گوجه‌فرنگی (۲/۹سانتی‌متر) بود. جدایه UrmiaB با بیشترین شدت بیماری¬زایی برای انجام آزمایش‌های بعدی انتخاب و استفاده شد (آزمایش با سه تکرار و هر تکرار با سه عدد میوه انجام شد) (جدول–۱، شکل – ۴).

### اثر بازدارندگی عصاره آویشن در جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *A. solani* در آزمایشگاه

نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آویشن از ۵۰ به ۱۵۰ میلی‌مولار، درصد بازدارندگی و ضدقارچی این ماده افزایش می‌یابد، براساس نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری بین تیمارها با غلظت‌های مختلف مشاهده شد. به‌طوری‌که در غلظت ۵۰ میلی-مولار (T1)، کمترین درصد بازدارندگی (۳۸/۹۵ درصد) و در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار ((۷۹/۱۶ درصد) T2 و (۸۱/۱۹ درصد) T3) میزان بازدارندگی افزایش یافت. میانگین قطر رشد پرگنه با افزایش غلظت عصاره آویشن کاهش یافته (T1 (۱۳/۹۵ میلی‌متر)، T2 (۹/۵۰ میلی‌متر)، T3 (۷/۸۳ میلی‌متر) و در تیمار شاهد (۳۸/۵۸ میلی‌متر) و درصد بازدارندگی عصاره آویشن افزایش یافت. (داده‌های آزمایش برحسب میانگین سه تکرار می‌باشند. آنالیز تجزیه واریانس در این آزمایش و آزمایش‌های بعدی با احتمال خطای ۰/۰۰۰۱> $\alpha$ و مقایسه میانگین‌ها برمبنای آزمون توکی با احتمال خطای کمتر از پنج درصد محاسبه شد) (جدول ۲، شکل ۵).

### بررسی محتوای کلروفیل کل

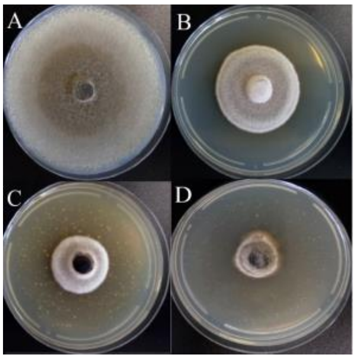
محتوای کلروفیل کل بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در dpi ۱۲ در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمارشده نسبت به گیاهان کنترل منفی (گیاهان سالم و تلقیح شده با آب مقطر) معنادار بود. بیشترین محتوای کلروفیل کل بوته در گیاهان آلوده‌شده با *A. solani* و تیمارشده با عصاره آویشن مربوط به غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار در روز ۱۲ بعد از اعمال تیمار در سطح احتمال پنج درصد بود. کمترین طول بوته در گیاهان کنترل منفی یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (شکل ۶

جدول ۳).

**جدول ۲**– درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر، میانگین فراوانی و شدت بیماری ناشی از *Alternaria solani* با کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره آویشن

**Table 2**- Inhibition of fungal growth, disease frequency, and severity after thyme extract treatment.

| تیمار (UrmiaB) | میانگین شدت بیماری | میانگین فراوانی بیماری (٪) | درصد بازدارندگی عصاره آویشن روی پرگنه UrmiaB (٪) |
|---|---|---|---|
| Control (distilled water + healthy plant) | 0 | 0[a] | 0[a] |
| Negative control (*A. solani*) | 16.5±71.96 | 0[a] | 0[a] |
| Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of *A. solani* with a concentration of CFU/ml (T1) | 30.32±1.20 | 25.95[b] | 38.95 [b] |
| Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of *A. solani* with a concentration of CFU/ml (T1) | 24.21±1.61 | 14.16 [c] | 79.16 [c] |
| Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of *A. solani* with a concentration of CFU/ml (T1) | 16.32±1.18 | 13.19 [cd] | 81.19 [cd] |




شکل ۵– اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره آویشن در جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *Alternaria solani* در آزمایشگاه

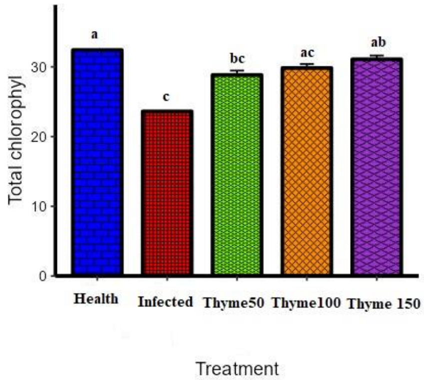
A: *A. solani* + آب مقطر، B: *A. solani* + ۵۰ میلی‌مولار آویشن، C: *A. solani* + ۱۰۰ میلی‌مولار آویشن، D: *A. solani* + ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن

Figure 5: Inhibition of Alternaria solani mycelial growth by thyme extract in vitro. Treatments: A, distilled water (control); B, 50 mM thyme; C, 100 mM thyme; D, 150 mM thyme.

**جدول ۳**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای کلروفیل کل گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 3**- Average effect of thyme extract on total chlorophyll content in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

| Groups | Variable | N of groups | Kruskal Wallis | df | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | Total chlorophyl | 5 | 17.93960 | 4 | 0.00127 |




**شکل ٦**– نمودار مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای کلروفیل کل گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 6**- Average effect of thyme extract on chlorophyll content in tomato plants infected with *Alternaria solani*.

## بررسی طول بوته

طول بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در ۱۲ dpi در گیاهان آلوده تیمارشده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین طول بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین طول بوته در گیاهان سالم و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (شکل ۷، جدول ۴).

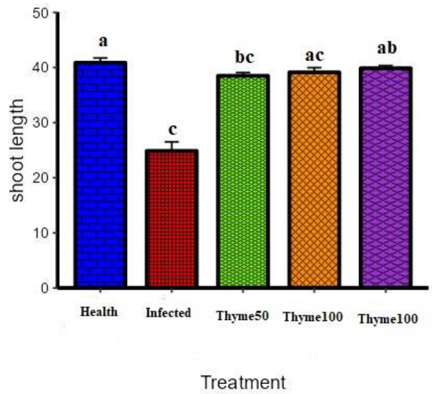
## بررسی طول ریشه

اندازه طول ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده شده فقط با *A. solani*) معنادار بود. درحالی‌که تیمار غلظت‌های مختلف آویشن بین خود تیمارها در گیاهان آلوده به قارچ تفاوت معناداری در سطح احتمال پنج درصد نشان نداد. بیشترین طول ریشه در گیاهان سالم (کنترل منفی) و کمترین طول ریشه در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۵، شکل ۸).

**جدول ٤**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر روی طول بوته گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 4**- Average Effect of Thyme Extract on Tomato Plant Length Affected by *Alternaria solani*

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Shoot length | Shapiro Wilk | 0.97137 | 0.84997 | Yes |
| Infected | Shoot length | Shapiro Wilk | 0.97973 | 0.90041 | Yes |
| Thymus100 | Shoot length | Shapiro Wilk | 0.97137 | 0.84997 | Yes |
| Thymus150 | Shoot length | Shapiro Wilk | 0.86337 | 0.27245 | Yes |
| Thymus50 | Shoot length | Shapiro Wilk | 0.72863 | 0.02386 | Yes |



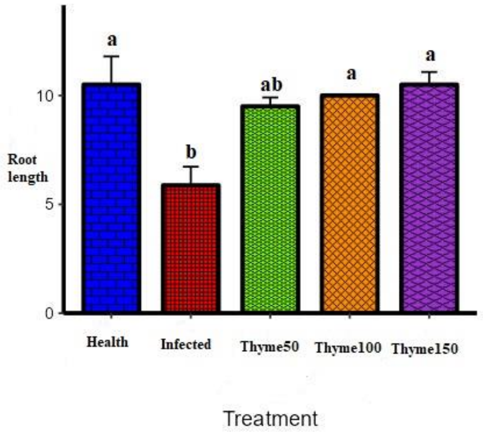

شکل ۷– نمودار مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول بوته گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 7: Average effect of thyme extract on tomato plant length after *Alternaria solani* infection

**جدول ۵**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 5**- Average Effect of Thyme Extract on Root Length in Tomato Plants Infected with *Alternaria solani*

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Root length | Shapiro Wilk | 0.99291 | 0.97188 | Yes |
| Infected | Root length | Shapiro Wilk | 0.97137 | 0.84997 | Yes |
| Thymus100 | Root length | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus150 | Root length | Shapiro Wilk | 0.72863 | 0.02386 | Yes |
| Thymus50 | Root length | Shapiro Wilk | 0.94466 | 0.68296 | Yes |




**شکل ۸**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول ریشه گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 8**- Average effect of thyme extract on root length in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

## بررسی وزن تر بوته

اندازه وزن تر بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان آلوده‌شده با قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت معنادار بود. با افزایش غلظت از ۵۰ به ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش معناداری در وزن تر بوته در گیاهان تیمارشده با عصاره آویشن و آلوده به قارچ بین خود تیمارهای آویشن مشاهده نشد. بیشترین وزن تر بوته مربوط به گیاهان کنترل منفی و کمترین وزن تر بوته مربوط به گیاهان کنترل مثبت بود (شکل ۹، جدول ۶).

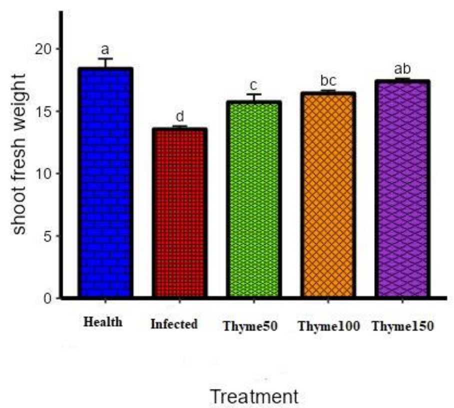
## بررسی وزن تر ریشه

وزن تر ریشه بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان آلوده به قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین وزن تر ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن در غلظت۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. در کل، بیشترین وزن تر ریشه در گیاهان کنترل منفی و کمترین آن در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۷، شکل ۱۰).

**جدول ٦**- مقایسه میانگین تأثیر عصاره آویشن بر وزن تر بوته گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 6**- Average effect of thyme extract on root length in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

| Parameter | df | Sum.Sq | Mean.Sq | F.value | P |
|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 4 | 54.11500 | 13.52875 | 55.98103 | 0.00000 |
| Residuals | 15 | 3.62500 | 0.24167 | | |
| Total | 19 | 57.74000 | 13.77042 | | |



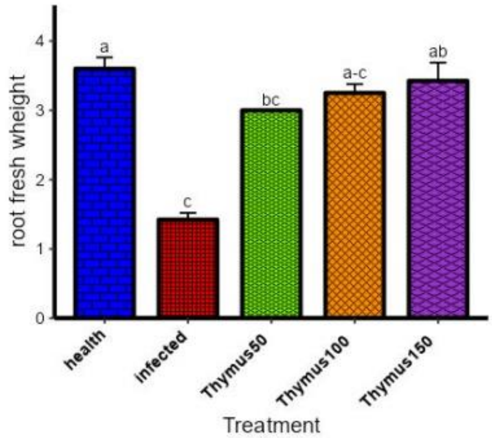

**شکل ۹**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 9**- Average effect of thyme extract on fresh weight of tomato plants infected with *Alternaria solani*.

**جدول ۷**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 7**- Average Effect of Thyme Extract on Fresh Weight of *A. solani*-Infected Tomato Roots

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Root fresh wheight | Shapiro Wilk | 0.94466 | 0.68296 | Yes |
| Infected | Root fresh wheight | Shapiro Wilk | 0.99179 | 0.96644 | Yes |
| Thymus100 | Root fresh wheight | Shapiro Wilk | 0.99291 | 0.97188 | Yes |
| Thymus150 | Root fresh wheight | Shapiro Wilk | 0.88691 | 0.369 | Yes |
| Thymus50 | Root fresh wheight | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |




**شکل ۱۰**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 10**- Average effect of thyme extract on fresh root weight of tomato plants infected with *Alternaria solani*.

### بررسی وزن خشک بوته

افزایش محتوای وزن خشک بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمارشده با قارچ نسبت کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در بین گیاهان شاهد نیز بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین وزن خشک بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۸، شکل ۱۱).

### بررسی وزن خشک ریشه

افزایش وزن خشک ریشه بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمارشده نسبت به گیاهان شاهد معنادار بود. بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. در گیاهان شاهد نیز بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۹، شکل ۱۲).

### بررسی محتوای آنزیم کاتالاز

بررسی افزایش محتوای آنزیم کاتالاز بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده‌شده با قارچ در ۱۲ dpi نسبت به گیاهان کنترل مثبت بود. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین محتوای آنزیم کاتالاز در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده‌شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۱۰، شکل ۱۳).

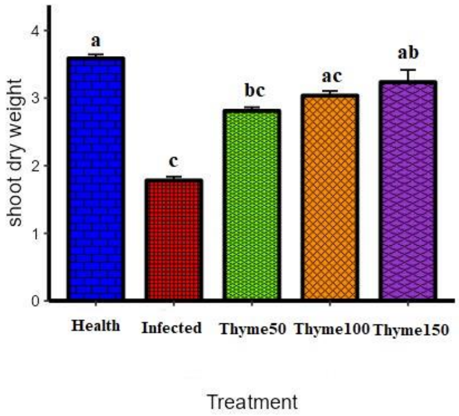
### بررسی محتوای فلاونوئیدها

نتایج نشان داد که محتوای فلاونوئیدهای بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین محتوای فلاونوئیدهای کل در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با غلظت‌های مختلف آویشن در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین تولید فلاونوئید بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین محتوای فلاونوئید کل در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۱۱، شکل ۱۴).

**جدول ۸**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک شاخسار گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 8-** Effect of thyme extract on dry weight of *Alternaria solani* -infected tomato shoots

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Shoot dry weight | Shapiro Wilk | 0.86521 | 0.27929 | Yes |
| Infected | Shoot dry weight | Shapiro Wilk | 0.72863 | 0.02386 | Yes |
| Thymus100 | Shoot dry weight | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus150 | Shoot dry weight | Shapiro Wilk | 0.82229 | 0.14857 | Yes |
| Thymus50 | Shoot dry weight | Shapiro Wilk | 0.77291 | 0.06185 | Yes |



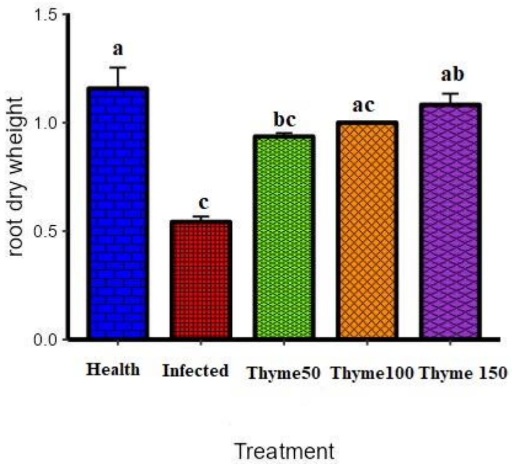

**شکل ۱۱**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک شاخسار گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 11-** Average effect of thyme extract on dry weight of tomato shoots infected with *Alternaria solani.*

**جدول ۹**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 9-** Effect of thyme extract on dry weight of tomato roots infected with *Alternaria solani*.

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| health | Root dry wheight | Shapiro Wilk | 0.78211 | 0.07381 | Yes |
| infected | Root dry wheight | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus100 | Root dry wheight | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus150 | Root dry wheight | Shapiro Wilk | 0.89888 | 0.42554 | Yes |
| Thymus50 | Root dry wheight | Shapiro Wilk | 0.91068 | 0.486 | Yes |



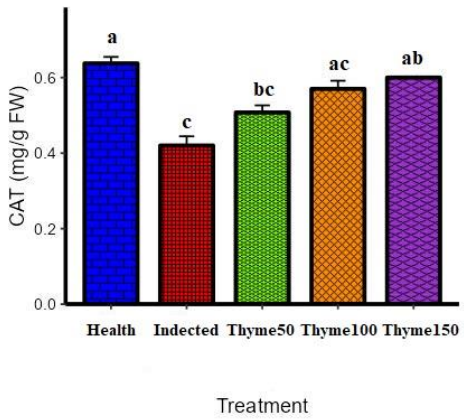

**شکل ۱۲**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 12-** Average Effect of Thyme Extract on Dry Weight of Tomato Roots Infected with *Alternaria solani*

**جدول ۱۰**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم کاتالاز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 10-** Effect of Thyme Extract on Catalase Synthesis in *Alternaria solani*-Infected Tomatoes

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | کاتالاز (mg.g$^{-1}$ FW) | Shapiro Wilk | 0.97137 | 0.84997 | Yes |
| Infected | کاتالاز (mg.g$^{-1}$ FW) | Shapiro Wilk | 0.86038 | 0.26157 | Yes |
| Thymus100 | کاتالاز (mg.g$^{-1}$ FW) | Shapiro Wilk | 0.92708 | 0.57735 | Yes |
| Thymus150 | کاتالاز (mg.g$^{-1}$ FW) | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus50 | کاتالاز (mg.g$^{-1}$ FW) | Shapiro Wilk | 0.79065 | 0.08649 | Yes |



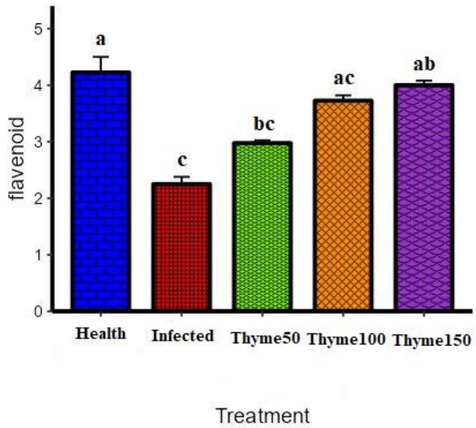

**شکل ۱۳**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم کاتالاز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 13-** Average effect of thyme extract on catalase synthesis in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

**جدول ۱۱**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فلاونوئیدکل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 11-** Average Effect of Thyme Extract on Total Flavonoids in *Alternaria solani* -Infected Tomatoes

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Flavenoid | Shapiro Wilk | 0.93927 | 0.64988 | Yes |
| Infected | Flavenoid | Shapiro Wilk | 0.99291 | 0.97188 | Yes |
| Thymus100 | Flavenoid | Shapiro Wilk | 0.86337 | 0.27245 | Yes |
| Thymus150 | Flavenoid | Shapiro Wilk | 0.94466 | 0.68296 | Yes |
| Thymus50 | Flavenoid | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | NO |




**شکل ١٤**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فلاونوئیدهای کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 14-**Average effect of thyme extract on total flavonoid content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

### بررسی محتوای فنل بوته‌ها

بررسی محتوای کل فنل بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده‌شده به قارچ نسبت به گیاهان کنترل مثبت در سطح احتمال پنج درصد در dpi ۱۲ معنادار نبود. با افزایش غلظت تیمارهای عصاره آویشن، تفاوت معناداری در افزایش سطح فنل در گیاهان تیمارشده با آویشن و آلوده به قارچ در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد. بیشترین سطح فنل کل بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۱۲، شکل ۱۵).

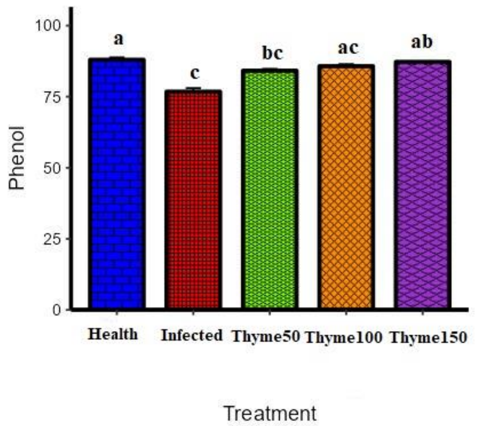
### بررسی محتوای پرواکسیداز بوته‌ها

بررسی افزایش محتوای پروکسیداز بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) فقط در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن در dpi ۱۲معنادار بود. با افزایش غلظت آویشن، تفاوت معناداری در افزایش بیشترین محتوای آنزیم پراکسیداز در گیاهان آلوده در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد. بیشترین محتوای پراکسیداز بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین آن در گیاهان کنترل مثبت ثبت شد (جدول ۱۳، شکل ۱۶).

**جدول ۱۲**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز فنل کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 12-** Effect of Thyme Extract on Total Phenol Synthesis in *Alternaria solani*-Infected Tomatoes

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | Phenol | Shapiro Wilk | 0.88609 | 0.3653 | Yes |
| Infected | Phenol | Shapiro Wilk | 0.89495 | 0.40639 | Yes |
| Thymus100 | Phenol | Shapiro Wilk | 0.7622 | 0.04991 | NO |
| Thymus150 | Phenol | Shapiro Wilk | 0.8494 | 0.22423 | Yes |
| Thymus50 | Phenol | Shapiro Wilk | 0.89345 | 0.39925 | Yes |



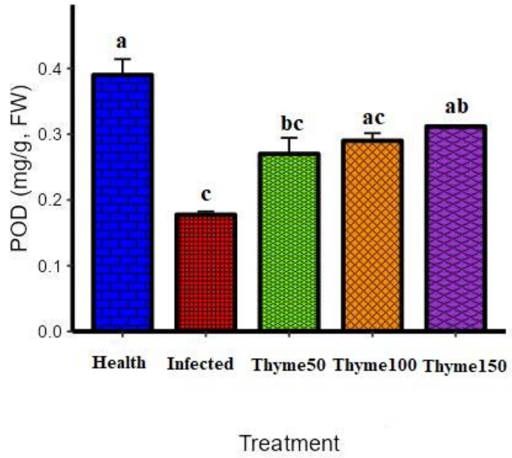

**شکل ۱۵**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فنل کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 15**- Effect of thyme extract on total phenolics in *Alternaria solani* -infected tomatoes.

**جدول ۱۳**– مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای آنزیم پرواکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 13**- Average Effect of Thyme Extract on Peroxidase in *Alternaria solani* -Infected Tomatoes

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | POD (mg.g$^{-1}$, FW) | Shapiro Wilk | 0.8211 | 0.14575 | Yes |
| Infected | POD (mg.g$^{-1}$, FW) | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | NO |
| Thymus100 | POD (mg.g$^{-1}$, FW) | Shapiro Wilk | 0.72863 | 0.02386 | NO |
| Thymus150 | POD (mg.g$^{-1}$, FW) | Shapiro Wilk | 0.97137 | 0.84997 | Yes |
| Thymus50 | POD (mg.g$^{-1}$, FW) | Shapiro Wilk | 0.86038 | 0.26157 | Yes |



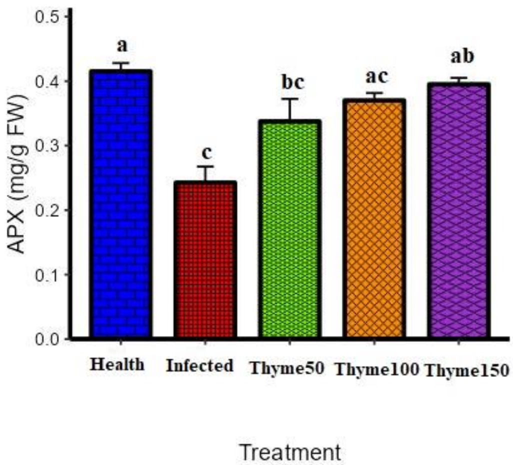

**شکل ١٦**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای پراکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 16**- Average effect of thyme extract on peroxidase content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

**جدول ١٤**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم آسکوربات پراکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Table 14**- Comparison of the average effect of thyme extract treatment on the synthesis of ascorbate peroxidase enzyme in tomatoes infected with *Alternaria solani*

| Treatment | Variable | Method | Statistic | P.value | Normal? |
|---|---|---|---|---|---|
| Health | APX (mg/g FW) | Shapiro Wilk | 0.99291 | 0.97188 | Yes |
| Infected | APX (mg/g FW) | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus100 | APX (mg/g FW) | Shapiro Wilk | 0.72863 | 0.02386 | Yes |
| Thymus150 | APX (mg/g FW) | Shapiro Wilk | 0.62978 | 0.00124 | Yes |
| Thymus50 | APX (mg/g FW) | Shapiro Wilk | 0.97865 | 0.89407 | Yes |




**شکل ١٧**- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر آسکوربات پراکسیداز کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

**Figure 17**- Average effect of thyme extract on Ascorbate peroxidase content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

### بررسی محتوای آسکوربات پراکسیداز (APX) بوته‌ها

افزایش محتوای آنزیم آسکوربات پراکسیداز بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت فقط در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن در سطح احتمال پنج درصد در dpi ۱۲معنادار بود. بیشترین تولید آسکوربات پراکسیداز در بین بوته‌های مربوط به گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده‌شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۱۴، شکل ۱۷).

## بحث

یکی از راهبردهای مدیریت پایدار در مهار بیماری‌های گیاهی،

شناخت، به‌کارگیری و توسعه ترکیبات زیستی سازگار با محیط زیست و ترکیبات مختل‌کننده در برهم‌کنش سازگار بین بیمارگر و گیاه است (Ribera & Zuñiga, 2012). بیمارگر *A. solani* یکی از مخرب ترین عوامل خسارت‌زا روی گوجه‌فرنگی می‌باشد (Meena *et al.*, 2021). مطالعات زیادی نشان داده است که یکی از منابع مقرون به‌صرفه، ایمن و پایدار در برابر بیمارگرهای قارچی در گیاهان استفاده از عصاره‌های گیاهی می‌باشد (Sánchez-Gómez *et al*., 2024 ; Ashrafi *et al*., 2020). پادزیست‌های گیاهی علاوه‌بر خواص ضدقارچی، فاقد اثرات زیان‌بار انسانی و زیست‌محیطی می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از روش‌های انفرادی در مهار بیمارگرها منجر به ایجاد مقاومت شده و استفاده از روش‌های ترکیبی و تلفیقی با تأکید بر پیشگیری از ورود بیماری به مزارع غیرآلوده ضروری است (Younesi *et al*., 2023Meena *et al*., 2021 ;). در این تحقیق، ابتدا اقدام به شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی *A. solani* مطابق با منابع معتبر علمی موجود و آغازگرهای اختصاصی شد (Kumar *et al*., 2008).

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های گیاهی آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر رشد نخینه قارچ بیمارگر در محیط کشت نشان داد که عصاره مورد استفاده در این تحقیق از رشد *A. solani* در شرایط آزمایشگاهی به‌ویژه در غلظت‌های بالا جلوگیری به عمل آوردند (۸۰ درصد و ۸۲ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار). نتایج این مطالعات نشان داد که بازدارندگی و کاهش شدت بیماری عصاره آویشن وابسته به غلظت می‌باشد (جدول ۱ و ۲، شکل ۵).

کارواکرول یکی از ترکیباتی است که به‌وفور در عصاره گیاهان آویشن وجود دارد. به نظر می‌رسد که کارواکرول از طریق افزایش pH واکوئل و خروج پروتون‌ها از لومن واکوئل منجر به اسیدی شدن سیتوزول شده و توازن یون کلسیم را مختل می‌کند و نوسان سریع و شدید کلسیم سیتوزولی فرآیندی است که توسط دو ایزومر فنولی کارواکرول و تیمول منجر به مرگ سلول‌های قارچی می‌گردد. بررسی‌های بیوشیمیایی روی آویشن نشان داده است که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه از جمله کورستین، لوتئولین، مشتقات فنولی مانند مشتقات بنزوئیک اسید، مشتقات رزمارینیک اسید و توکوفرول، ترپنوئیدهای مهم مانند پاراسایمون و در نهایت، روغن‌های فرار آویشن شامل تیمول، کارکرول، پاراسایمن و بتاکاریوفیلن شناسایی شده است که بیشتر این ترکیبات دارای خاصیت ضدقارچی هستند (Campolo *et al*., 2018).

نتایج تحقیقات متعددی نشان داد که عصاره آویشن منجر به بازداری از رشد قارچ در محیط کشت می‌گردد. نتایج حاصل از این آزمایش با بررسی‌های تأثیر عصاره آویشن بر قارچ‌های *Pythium aphanidermatum*، *Rhizoctonia solani* (AG4)، *Fusarium graminearum* و *Sclerotinia sclerotiorum* نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی روی قارچ‌های مذکور در غلظت‌های بالا صورت می‌گیرد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم‌پوشانی نشان می‌دهد (Amini *et al*., 2012).

کریمی و همکاران (Karimi *et al*., 2020) اثر عصاره رازیانه، میخک، آویشن و مریم‌گلی را روی رشد قارچ بیمارگر *A. flavus* بررسی کردند و نشان دادند که آویشن و میخک در غلظت ۶۰۰ پی‌پی¬ام به‌طور کامل رشد قارچ را مهار می‌کنند. نتایج تحقیقات لطفی و همکاران (Lotfi *et al*., 2010) نشان داد که استفاده از عصاره گیاهان آویشن، زنیان و پونه اثرات بازدارندگی بالایی بر رشد ریسه‌های قارچ *F. oxysporum* دارند، به‌طوری‌که در غلظت ۴۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گیاه آویشن، رشد نخینه قارچ *F. oxysporum* به‌طور کامل مهار شد و در هر سه نمونه عصاره با افزایش غلظت عصاره رشد قارچ کاهش یافت. نتایج تحقیقات افشاری و همکاران (Afshari *et al*., 2020) در راستای بررسی اثرات عصاره رازیانه و آویشن بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* نشان داد که این عصاره‌ها در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام دارای بیشترین قدرت بازدارندگی رشد قارچ هستند. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره و عصاره آویشن است. ترکیباتی مانند بتا پینن، آلفا پینن، لینالول و کامفور از جمله آن‌ها است. از دیگر ترکیباتی که خاصیت ضدقارچی دارند، می‌توان به سینئول، سیمن، کامفن و آلفا ترپ ینئول، کارواکرول، لیمونن، کارون و برنئول اشاره نمود (Soltani & Moghaddam, 2014). تیمول یکی از مهم‌ترین ترکیبات ضدقارچی موجود در عصاره گیاهانی مانند اسطوخودوس، رازیانه و آویشن است (Stepanova *et al*., 2022). مطالعات دنایی و همکاران (Danaei *et al*., 2014) نشان داد علاوه‌بر اینکه رشد قارچ بیمارگر *Alternaria alternata* تحت تیمار با عصاره ۵۰۰ پی‌پی‌ام آویشن در محیط کشت مورد مطالعه کاهش یافت، در این مطالعه، کاهش میزان اسپورزایی قارچ و ایجاد اسپورهای تغییرشکل‌یافته نیز در محیط کشت مورد مشاهده قرار گرفت. زمانی‌که تولید زیست‌توده قارچ بیمارگر کاهش می‌یابد، متعاقب آن شدت بیماری‌زایی قارچ نیز کمتر شد. از طرفی، مطالعه عصاره آویشن بر قارچ *A. flavus* نشان داد که عصاره مذکور گیاهی باعث تجزیه مستقیم آفلاتوکسین در محیط کشت می‌شود (Rana *et al*., 2021).

تحقیقات مختلفی برای شناسایی ترکیبات ضدقارچی جدید سازگار با محیط‌زیست و تجدیدشونده انجام شده است، به‌عنوان مثال، اثر پنج گونه گیاهی شامل *Artemisia aucheri*، *Thymus daenensis*، *Mentha aquatic*، *Myrtus commisia* و *Vitex agnus- castus* بر رشد مسیلیومی قارچ‌های بیمارگر گیاهی شامل *Gaeumannomyces graminis*، *Rhizoctonia solani*،

*Pythium ultimum* و *F. oxysporum* مورد پژوهش قرار گرفت. نتایج تحقیقات نشان داد که مقاوم‌ترین قارچ در برابر عصاره‌های گیاهی فوق، *R. solani* و حساس‌ترین آن‌ها *P. ultimum* می‌باشند. همچنین از بین عصاره‌های مورد آزمایش عصاره‌های *M. aquatic* و *T. daensis* بیش‌ترین اثر را در مهار رشد پرگنه قارچ‌های مورد مطالعه داشتند و *V. aqnus- castus* کم‌ترین اثر را در مهار رشد پرگنه نشان داد (Sepehrvand *et al*., 2017). در یک پژوهش دیگر جهت کاهش میزان رشد *A. flavus* از غلظت‌های مختلف عصاره‌های باریجه، آویشن، مورد و میخک استفاده شد و نتایج نشان داد که قدرت بازدارندگی همگی این عصاره‌ها بر کاهش میزان رشد قارچ مورد نظر معنی‌دار هستند (Jia et al., 2022). کارآیی عصاره میخک (*caryophyllus Dianthus*)، گیاه کاسیا (*Cassia floribunda*) و آویشن در کاهش آلودگی‌های بذر ذرت ناشی از قارچ‌های *Chaetomium indicum* و *A. flavus* نشان داده شد (Verma *et al*., 2021). از گذشته تاکنون عصاره آویشن به‌عنوان یک میکروب‌کش مهم مطرح بوده است و خاصیت ضدمیکروبی آن بیشتر به‌دلیل وجود کارواکرول و تیمول است. جهت مهار رشد پرگنه قارچ *A. alterata* از عصاره گیاه آویشن استفاده شد و نتایج نشان داد که قدرت بازدارندگی رشد این قارچ به‌وسیله عصاره مذکور بسیار مطلوب بوده و نتایج خوبی در غلظت‌های مختلف تیمارشده نشان داد (Mahmudi *et al*., 2012). در یک بررسی، تأثیر عصاره متانولی آویشن بر قارچ‌های خاکزاد در توتون شامل *R. solani* و *Phytophtora nicotianae* نشان داد که بهترین غلظت برای خاصیت ضدقارچی عصاره در شرایط آزمایشگاهی، غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام است (Sajjadi & Assemi, 2014).

در مطالعاتی که سپهروند و همکاران (Sepehrvand *et al*., 2017) روی اثرات بازدارندگی چهار عصاره نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camadulensis*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller.) علیه دو عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا (*Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani*) انجام دادند، گزارش کردند که عصاره آویشن شیرازی علیه هر دو بیمارگر بیشترین اثر بازدارندگی (به‌ترتیب ۸۵ و ۸۳ درصد) را نشان داد. عصاره‌های آویشن، رزماری و زیره سیاه در شرایط *In vitro* یا درون شیشه‌ای بر رشد قارچ *پنی‌سیلیوم* و کپک خاکستری مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که عصاره‌های آویشن و زیره می‌توانند از رشد نخینه‌های پنی‌سیلیوم به‌طور کامل ممانعت کنند (Iraji *et al*., 2020). اثر عصاره‌های آویشن کوهی، آویشن باغی و آویشن شیرازی روی قارچ بیماری‌زای گیاهی *Rhizoctonia solani* نشان داد که در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر محیط کشت اثر مهارکنندگی ۱۰۰ درصد بر قارچ‌های مذکور داشت (Amini *et al*., 2018). در تحقیقات جو و همکاران (Ju *et al*., 2023)، اثر ضدقارچی عصاره آویشن و رازیانه و نیز تلفیق این دو عصاره در نسبت‌های مختلف روی قارچ *A. alternate* بررسی شد و نتایج نشان داد که در برخی نسبت‌های تلفیقی، اثرات هم‌افزایی دارند. عصاره روغنی چهار گونه دارویی از جمله کاکوتی (یک گیاه نزدیک به گونه آویشن) را بر مهار *آلترناریا* مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که هر چهار عصاره قابلیت کاهش رشد قارچ را دارند و با افزایش غلظت بخار، کارآیی آن نیز افزایش داشت (Hong *et al*., 2018). احمد و همکاران (Ahmed *et al*., 2022) عصاره روغنی آویشن را برای مهار کپک خاکستری و پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی بررسی کردند. در این پژوهش عصاره آویشن به‌صورت محلول‌پاشی و به‌صورت کاربرد ریشه‌ای در محیط هیدروپونیک استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره آویشن موجب مهار کپک خاکستری به‌میزان ۶۰ درصد و مهار *فوزاریوم* به‌میزان ۳۰ درصد گردید و کاربرد ریشه‌ای عصاره مؤثرتر از محلول‌پاشی بود. گوپتا و همکاران (Gupta *et al*., 2023)، فعالیت ضدقارچی غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) عصاره چهار گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Thymus vulgaris*)، زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، سیر (*Allium sativum*) و آلوورا (*Aloe vera*) را مورد پژوهش قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره آویشن با غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین بازدارندگی را بر قارچ *Penicillium digitatum* عامل بیماری کپک سبز در درختان مرکبات دارد. این گیاه به‌دلیل دارا بودن کاروتن‌ها (پیش‌ساز ویتامین A)، انواع ویتامین‌ها مانند ویتامین C و ویتامین‌های گروه B همچنین، املاح مهم معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، آهن و فسفر، از مهم‌ترین سبزیجات در رژیم غذایی انسان محسوب می‌شود (Ferrigo *et al*., 2020). نتایج آزمایشگاهی حاصل از این تحقیق بر روی اثر بازدارندگی عصاره آویشن بر *A. solani* و شدت بیماری‌زایی آن در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ نیز در این تحقیق نشان داده شد که با نتایج ضدقارچی این عصاره روی سایر بیمارگرهای قارچی هم‌پوشانی دارد.

از طرفی دیگر، در این آزمایش مشخص شد که عصاره آویشن وابسته به غلظت منجر به به بهبود برخی صفات مورفو-فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی شامل طول ریشه و شاخسار، وزن تر و خشک ریشه و شاخسار، افزایش محتوای کلروفیل، افزایش بیان برخی آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پروکسیداز، فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت شرایط گلخانه‌ای شد. همچنین نتایج این تحقیقات نشان داد که بهبود صفات مورفو-فیزیولوژیکی در غلظت‌های بالای تیمارهای آویشن رخ می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آویشن روی قارچ *A. solani* تحت شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی به‌خوبی عمل نموده و باعث کاهش رشد قارچ و متعاقب آن کاهش میزان شدت بیماری شده است. برای مهار *A. flavus* تولیدکننده

آفلاتوکسین در پسته از عصاره‌های گیاهانی چون مرزه بختیاری، مرزه خوزستانی، آویشن باغی، مریم‌گلی و ملیس و همچنین عصاره گیاهان مرزه خوزستانی، مریم‌گلی، آویشن باغی و ملیس استفاده شد که از بین این‌ها سه عصاره مرزه بختیاری، مرزه خوزستانی و آویشن باغی در غلظت‌های بالا باعث کاهش وزن خشک پرگنه قارچ شدند (Gandomi *et al*., 2009). مؤثر بودن عصاره آویشن بر کاهش آفلاتوکسین در میوه‌های پسته انباری آلوده نشان می‌دهد که در شرایط انباری این عصاره‌ها علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی، سریعاً تجزیه شده و باقی‌مانده سمی کمتری روی محصول دارند (Doehlemann *et al*., 2017) و می‌توان با فرموله کردن این عصاره‌ها با ترکیبات مناسب در آینده آن‌ها در انبارداری گوجه‌فرنگی نیز از آن استفاده نمود. شهریاری و همکاران (Shahriari *et al*., 2017) نشان دادند که عصاره آویشن در ترکیب با عصاره زنیان خاصیت قارچ‌کشی بالایی علیه *R. solani* در سیب‌زمینی دارند. ترکیب این دو عصاره منجر به بهبود شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن تر و خشک بوته، همچنین وزن تر و خشک شاخسار سیب‌زمینی شد.

محتوای آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، فنیل آلانیل آمونیالیاز در گیاهان خیار تیمارشده با عصاره آویشن روند افزایشی نشان داد (Aghazadeh Naeini *et al*., 2022).

تیمار عصاره آویشن بر روی برنج آلوده به *R. solani* منجر به کاهش علائم شیت بلایت شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره آویشن در القاء آنزیم‌های پراکسیدازی و مسیر ساخت ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نقش مهمی دارد (Sareana *et al*., 2006). نتایج مطالعات نشان داد که عصاره‌های متانولی آویشن، در شرایط گلخانه‌ای نیز موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه‌ها و ساقه های گندم آلوده به *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* در مقایسه با گیاهان شاهد آلوده شدند (Rehmany *et al*., 2003) که با نتایج حاصل از این تحقیق همپوشانی نشان می‌دهد. کمانگر و همکاران (Kamangar *et al*., 2012) اثر ضدقارچی عصاره آویشن علیه بیمارگرهای *R. solani* و *F. solani* در لوبیا را تحت شرایط گلخانه-ای بررسی کرده و نشان دادند که این عصاره علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی منجر به بهبود شاخص‌های رشدی مانند وزن تر، وزن خشک ریشه و شاخسار و افزایش ارتفاع گیاه می‌گردد.

در یک تحقیق، اثر مهارکنندگی عصاره گیاهان آویشن دنایی بر میزان رشد قارچ بیمارگر *R. solani* و تغییرات میزان فعالیت آنزیم های دفاعی پراکسیداز و کاتالاز و همچنین تغییرات میزان بیان ژن این دو آنزیم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه در گیاه خیار در برهمکنش با بیماگر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که علاوه‌بر خاصیت ضد قارچی و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی خیار باعث افزایش محتوای آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، فنل و فلاونوئیدها در خیار آلوده به قارچ مذکور شد (Aghazadeh Naeini *et al*., 2022).

تأثیر خواص ضدقارچی عصاره آویشن بر *R. solani* در سیب زمینی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تیمار عصاره آویشن در غلظت‌های بالا موجب بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی در سیب‌زمینی می‌شود (Aksit *et al*., 2022).

بررسی‌ها نشان داد که عصاره آویشن به‌دلیل داشتن مونوترپین های اکسیژنه (تیمول) و هیدروکربن‌های مونوترپین از رشد قارچ‌های *Drechslera spicifera* و *Macrophomina phaseolina* در محیط کشت جلوگیری کردند (Moghaddam & Mehdizadeh, 2020).

بررسی‌ها نشان داد که عصاره آویشن تأثیر بالایی در ممانعت از جوانه‌زنی، اسپوردهی و رشد *R. solani* در محیط آزمایشگاهی داشته و در گیاه با افزایش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود مقاومت گیاه در برابر قارچ عامل بیماری می‌گردد (Nateqi & Mirghazanfari, 2018).

عصاره متانولی آویشن خاصیت ضدقارچی بالایی علیه *Fusarium oxysporum* و *Pythium* aphanidermatum در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای داشته و باعث بهبود شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی مانند وزن تر و خشک بوته و افزایش محتوای آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین، کاتالاز، پرواکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه شد (Al-Rahmah *et al*., 2013).

در یک بررسی دیگر مشاهده شد که عصاره آویشن خاصیت ضدقارچی بالایی بر کپک صورتی گوجه‌فرنگی (*Trichothecium roseum*) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای دارد. این ترکیب همچنین از جوانه‌زنی و رشد قارچ در محیط کشت تا حد زیادی ممانعت کرده و با القاء تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گوجه‌فرنگی، مقاومت گیاه در برابر این قارچ را افزایش داد (Balkan *et al*., 2017).

در یک بررسی دیگر مشاهده شد که عصاره آویشن علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی در برابر *R. solani*، باعث افزایش فنل و فلاونوئید در ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به قارچ تیمارشده با آویشن شد. علاوه‌بر این، آویشن منجر به بهبود شاخص‌های رشدی در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن شد (Abd-Ellatif *et al*., 2022).

عصاره متانولی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و سیر (*Allium sativum* L.) از رشد کپک سبز پرتقال با عامل *Penicillium digitatum* Sacc، در شرایط آزمایشگاهی و در انبار روی میوه ممانعت نمودند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصاره آویشن و سیر باعث القاء بیان آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل-اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز تا روز ۱۲ ام بعد از تیمار در میوه

پرتقال شدند (Gholamnezhad *et al*., 2019).

علی‌رغم اینکه سازوکار دقیق ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، ولی چندین سازوکار ضدقارچی برای آن‌ها پیشنهاد شده است. تجمع عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در سلول منجر به بیان برخی از ژن‌های دفاعی در گیاه شده، عصاره‌ها روی نفوذپذیری غشاء سلولی قارچ‌ها تأثیر داشته و با ایجاد اختلال در سلولی و تغییر در شکل غشاء و ریخت‌شناسی قارچ‌های بیمارگر گیاهی موجب نشت محتویات درون سلول به بیرون سلول و مرگ آن‌ها می‌شوند فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، فنیل آلانیل آمونیالیاز در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده بلایت زودرس و تیمارشده با آویشن در این تحقیق افزایش بیان نشان داد، درحالی‌که در گیاهان کنترل مثبت بیان این ژن‌ها در حضور بیمارگر سرکوب شد. بنابراین بیان ژن‌های دفاعی نیز به‌صورت غیرمستقیم تحمل گیاه در برابر قارچ را بیشتر می‌کنند (Pusztahelyi *et al*., 2007). فعال شدن این ژن‌ها منجر به تغییرات فیزیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های گیاهی می‌شود و در نهایت تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه، محیط گیاه میزبان را برای استقرار و گسترش قارچ بیمارگر نامطلوب می‌نماید (Pusztahelyi *et al*., 2007). پراکسیدازها همچنین در بیان پروتئین‌های مرتبط با بیماریزایی یا پروتئین‌های گروه PR نقش مهمی دارند. بیان ژن‌های گروه PR در تولید کیتینازها، پلی-ساکاریدهای دیواره سلولی، افزایش ضخامت دیواره سلولی، محدودیت منافذ سلولی و در نهایت القاء واکنش‌های دفاعی سیستمیک یا SAR نقش مهمی دارند (Shalaby & Horwitz, 2015). کیتینازها با تجزیه پلی‌ساکاریدهای دیواره قارچ‌ها تولید فراورده‌های کیتینی می‌کنند. فرآورده‌های کیتینی به‌عنوان الیسیتورهای قارچی عمل کرده و منجر به به ایجاد واکنش فوق حساسیت (HR) یا القاء SAR در گیاهان می‌شود (Ferreira *et al*., 2007). پراکسیدازها همچنین با رسوب ترکیبات فنلی در دیواره سلول‌های گیاهی در طول پاسخ‌های دفاعی با القاء تشکیل موانع ساختاری از قبیل افزایش سنتز دیواره سلولی و رسوب ترکیبات مختلف در دیواره سلولی از گسترش قارچ در گیاه ممانعت می‌کنند. ترکیبات فنلی القاءشده نیز منجر به الیگومریزاسیون لیگنین و سوبرین شده و علاوه‌بر این مواد فنولی به‌صورت مستقیم بر روی قارچ‌ها خاصیت ضدمیکروبی نشان می‌دهند (Pusztahelyi *et al*., 2007). افزایش بیان پراکسیدازها، پلی فنل اکسیدازها و آسکوربات پراکسیدازها نشان‌دهنده تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن علیه بیمارگرهای قارچی است که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم روی قارچ‌های بیمارگر تأثیر می‌گذارند (Shalaby & Horwitz, 2015).

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر این‌چنین نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره آویشن مورد مطالعه در این تحقیق به‌خصوص به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم تأثیر قابل توجهی در مهار و کاهش شدت بیماری ناشی از بلایت زودرس در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ در غلظت های بالای این عصاره دارد. بنابراین استفاده از عصاره آویشن یکی از راهکارهای کاهش خسارت در مدیریت بلایت زودرس گوجه‌فرنگی در کنترل تلفیقی این بیمارگر می‌تواند مطرح باشد.

## منابع


1. Abd-Ellatif, S., Ibrahim, A.A., Safhi, F.A., Abdel Razik, E.S., Kabeil, S.S., Aloufi, S., & Elshafie, H.S. (2022). Green synthesized of *Thymus vulgaris* chitosan nanoparticles induce relative WRKY-genes expression in *Solanum lycopersicum* against *Fusarium solani*, the causal agent of root rot disease. *Plants*, *11*(22), 3129. https://doi.org/10.3390/plants11223129
2. Abu-Bader, S.H. (2021). Using Statistical Methods in Social Science Research: With a complete SPSS Guide. Oxford University Press, USA.
3. Abdelgawad, Z.A., Mohamed, T.R., Afiah, S., & Al-Agwany, H. (2015). Effect of drought and salt stress on growth, osmolytes, protein, and isozymes in *Vicia faba* L. genotypes. *Egyptian Journal of Agronomy*, *37*, 93-119. https://doi.org/10.21608/agro.2015.67
4. Aghazadeh Naeini, S.S., Maleki, M., Gholamnezhad, J., & Shirmardi, M. (2022). Evaluation of the effect of some plant extracts in controlling *Rhizoctonia* rot in the greenhouse cucumber. *BioControl in Plant Protection*, *9*(2), 87-113. HTP//DOI.ORG/10.22092/BCPP.2022.128595.
5. Ahmed, M., Sajid, A. R., Javeed, A., Aslam, M., Ahsan, T., Hussain, D., & Ji, M. (2022). Antioxidant, antifungal, and aphicidal activity of the triterpenoids spinasterol and 22, 23-dihydrospinasterol from leaves of *Citrullus colocynthis* L. *Scientific Reports*, *12*(1), 4910. https://doi.org/10.1038/s41598-022-08999-z .
6. Aksit, H., Bayar, Y., Simsek, S., & Ulutas, Y. (2022). Chemical composition and antifungal activities of the essential oils of thymus species (*Thymus pectinatus*, *Thymus convolutus*, *Thymus vulgaris*) against plant pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *25*(1), 200-207. https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2043189 .
7. Amini, J., Farhang, V., Javadi, T., & Nazemi, J. (2018). Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* species. *The Plant Pathology Journal*, *32*(1), 16. https://doi.org/10.5423/ppj.oa.05.2015.0091

8. Amini, M., Safaie, N., Salmani, M. J., & Shams-Bakhsh, M. (2012). Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Trakia Journal Sciences*, *10*(1), 1-8.
9. Al-Rahmah, A. N., Mostafa, A. A., Abdel-Megeed, A., Yakout, S. M., & Hussein, S. A. (2013). Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research*, *7*(6), 517-524. https://doi.org/10.5897/AJMR12.1902 .
10. Ashrafi, A., Salehzadeh, M., & Khezrinezhad, N. (2020). Detection and identification of tomato wilt disease in East Azerbaijan province and controlling it using antagonist bacteria. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, *9*(1), 28-39. http://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.1.2.5 .
11. Bahraminejad, S., Seifolahpour, B., & Amiri, R. (2016). Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternaria solani*. *Journal of Crop Protection*, *5*(4), 603-616. http://dorl.net/dor/20.1001.1.22519041.2016.5.4.14.9.
12. Balkan, B., Balkan, S., Aydoğdu, H., Güler, N., Ersoy, H., & Aşkın, B. (2017). Evaluation of antioxidant activities and antifungal activity of different plants species against pink mold rot-causing *Trichothecium roseum*. *Arabian Journal for Science and Engineering*, *42*(6), 2279-2289. https://doi.org/10.1007/s13369-017-2484-4.
13. Campolo, O., Giunti, G., Russo, A., Palmeri, V., & Zappalà, L. (2018). Essential oils in stored product insect pest control. *Journal of Food Quality*, *2018*, 1-18. https://doi.org/10.1155/2018/6906105.
14. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methodes in Enzymology*, 2 (1), 764-765. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8.
15. Danaei, M., Baghizadeh, A., Pourseyedi, S., Amini, J., & Yaghoobi, M. M. (2014). Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. *Europian Journal of Experimental Bioogyl*, *4*(1), 334-339.
16. Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi. *Microbiology Spectrum*, *5*(1), 5-1. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016
17. Dev, U., Devakumar, C., Mohan, J., & Agarwal, P. C. (2004). Antifungal activity of aroma chemicals against seed-borne fungi. *Journal of essential oil Research*, *16*(5), 496-499. https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698780.
18. Driscoll, W. C. (1996). Robustness of the ANOVA and Tukey-Kramer statistical tests. *Computers and Industrial Engineering*, *31*(1-2), 265-268. https://doi.org/10.1016/0360-8352(96)00127-1
19. Farashah, S. D., & Salehzadeh, M. (2023). Effect of antagonistic bacterial agents isolated from the pistachio orchards on *Aspergilus flavus*. *Journal of Microbial World*, *16*(2), 143-155. https://doi.org/10.30495/jmw.2023.1968442.2038.
20. Fatemi, M., Azadi, H., Rafiaani, P., Taheri, F., Dubois, T., Van Passel, S., & Witlox, F. (2018). Effects of supply chain management on tomato export in Iran: Application of structural equation modeling. *Journal of Food Products Marketing*, *24*(2), 177-195. https://doi.org/10.1080/10454446.2017.1266552
21. Ferreira, R. B., Monteiro, S. A. R. A., Freitas, R., Santos, C. N., Chen, Z., Batista, L. M., Duarte, j., Borges, A., & Teixeira, A. R. (2007). The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. *Molecular Plant Pathology*, *8*(5), 677-700. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00419.x.
22. Ferrigo, D., Mondin, M., Ladurner, E., Fiorentini, F., Causin, R., & Raiola, A. (2020). Effect of seed biopriming with *Trichoderma harzianum* strain INAT11 on *Fusarium* ear rot and *Gibberella* ear rot diseases. *Biological Control*, *147*, 104286. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104286.
23. Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology Journal*, *43*(1), 337-359. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924.
24. Gandomi, H., Misaghi, A., Basti, A. A., Bokaei, S., Khosravi, A., Abbasifar, A., & Javan, A. J. (2009). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. *Food and chemical toxicology*, *47*(10), 2397-2400. https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.024.
25. Gholamnezhad, J., Arsalani, S., & Maleki, M. (2019). The investigation of the effect of garlic and thyme extracts on orange green mold (*Penicillium digitatum*), defense enzymes and genes expression. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *42*(1), 91-118. https://doi.org/10.22055/ppr.2019.14495
26. Gupta, P., Gupta, H., Tripathi, S., & Poluri, K. M. (2023). Biochemical and metabolomic insights into antifungal mechanism of berberine against *Candida glabrata*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *107*(19), 6085-6102. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12714-x.
27. Haghpanah, M., Najafi-Zarini, H., & Babaeian-Jelodar, N. (2023). Differential physiological and molecular responses of susceptible and resistant tomato genotypes to *Alternaria solani* infection. *Journal of Crop Protection*, *12*(3), 227-240. http://dorl.net/dor/20.1001.1.22519041.2023.12.3.1.3.
28. Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, *55*(1), 184-185. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x.
29. He, Y., Yan, H., Hua, W., Huang, Y., & Wang, Z. (2016). Selection and validation of reference genes for quantitative real-time PCR in Gentiana macrophylla. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 945. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00945

30. Hong, J. K., Jo, Y. S., Ryoo, D. H., Jung, J. H., Kwon, H. J., Lee, Y. H., & Park, C. J. (2018). *Alternaria* spots in tomato leaves differently delayed by four plant essential oil vapours. *Research in Plant Disease*, *24*(24), 292-301. https://doi.org/10.5423/RPD.2018.24.4.292
31. Iraji, A., Yazdanpanah, S., Alizadeh, F., Mirzamohammadi, S., Ghasemi, Y., Pakshir, K., & Zomorodian, K. (2020). Screening the antifungal activities of monoterpenes and their isomers against *Candida* species. *Journal of Applied Microbiology*, *129*(6), 1541-1551. https://doi.org/10.1111/jam.14740.
32. ji Cho, H., Hong, S. W., Kim, H. J., & Kwak, Y. S. (2016). Development of a multiplex PCR method to detect fungal pathogens for quarantine on exported cacti. *The Plant Pathology Journal*, *32*(1), 53. https://doi.org/10.5423%2FPPJ.NT.09.2015.0184.
33. Jia, J., Ford, E., Hobbs, S. M., Baird, S. M., & Lu, S. E. (2022). Occidiofungin is the key metabolite for antifungal activity of the endophytic bacterium *Burkholderia* sp. MS455 against *Aspergillus flavus*. *Phytopathology®*, *112*(3), 481-491. https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-21-0225-R
34. Karimi, S., Gholamnezhad, J., & Maleki, M. (2020). Control of *Aspergillus* and related aflatoxin production by using different plant extracts. *BioControl in Plant Protection*, *8*(1), 117-136. https://doi.org/10.22092/bcpp.2020.124008.
35. Kamangar, H., Hemmati, R., Yazdinejad, A., & Movahedi Fazel, M. (2014). Study on antifungal effects of five plant species extract against *Fusarium solani and Rhizoctonia solani* on bean. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *45*(1), 49-58. https://doi.org/10.22059/ijpps.2014.52246.
36. Kasahara, K., Miyamoto, T., Fujimoto, T., Oguri, H., Tokiwano, T., Oikawa, H., & Fujii, I. (2010). Solanapyrone synthase, a possible Diels–Alderase and iterative type I polyketide synthase encoded in a biosynthetic gene cluster from *Alternaria solani*. *ChemBioChem*, *11*(9), 1245-1252. https://doi.org/10.1002/cbic.201000173.
37. Kumar, V., Haldar, S., Pandey, K. K., Singh, R. P., Singh, A. K., & Singh, P. C. (2008). Cultural, morphological, pathogenic and molecular variability amongst tomato isolates of *Alternaria solani* in India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*, 1003-1009. https://doi.org/10.1007/s11274-007-9568-3.
38. Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biological Society Transaction*, 11 (5), 591-592. https://doi.org/10.1042/bst0110591.
39. Liu, W., Liu, K., Chen, D., Zhang, Z., Li, B., El-Mogy, M. M., & Chen, T. (2022). *Solanum lycopersicum*, a model plant for the studies in developmental biology, stress biology and food science. *Foods*, *11*(16), 2402. https://doi.org/10.3390/foods11162402.
40. Lotfi, A., Kottb, M., Elsayed, A., & Shafik, H. (2021). Antifungal activity of some Mediterranean seaweed against *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum in vitro*. *Alfarama Journal of Basic and Applied Sciences*, *2*(1), 81-96. https://doi.org/10.21608/ajbas.2020.41969.1031.
41. Mahmoudi, E., Ahmadi, A., & Naderi, D. (2012). Effect of *Zataria multiflora* essential oil on *Alternaria alternata in vitro* and in an assay on tomato fruits. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *119*, 53-58. https://doi.org/10.1007/BF03356420.
42. Meena, B. R., Meena, S., Chittora, D., & Sharma, K. (2021). Antifungal efficacy of *Thevetia peruviana* leaf extract against *Alternaria solani* and characterization of novel inhibitory compounds by Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis. *Biochemistry and Biophysics Reports*, *25*, 100914. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100914.
43. Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2020). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Iran against some plant pathogenic fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *23*(5), 1072-1083. https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1843547.
44. Nejhad, A. A., Behbahani, B. A., Hojjati, M., Vasiee, A., & Mehrnia, M. A. (2024). Investigation of the inhibitory, fungicidal and interactive effects of the aqueous extract of *Calotropis procera* on *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Fusarium solani* “*in vitro*”. *Journal of Food Science and Technology (2008-8787)*, *20*(143).
45. Narware, J., Singh, S. P., Manzar, N., & Kashyap, A. S. (2023). Biogenic synthesis, characterization, and evaluation of synthesized nanoparticles against the pathogenic fungus *Alternaria solani*. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1159251. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1159251.
46. Nateqi, M., & Mirghazanfari, S. M. (2018). Determination of total phenolic content, antioxidant activity and antifungal effects of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on growth of *Fusarium solani*. *Cellular and Molecular Biology*, *64*(14), 39-46. https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.14.7.
47. Pusztahelyi, T., Holb, I. J., & Pócsi, I. (2015). Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Frontiers in plant Science*, *6*, 573. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00573.
48. Rana, K. M., Maowa, J., Alam, A., Dey, S., Hosen, A., Hasan, I., & Kawsar, S. M. (2021). *In silico* DFT study, molecular docking, and ADMET predictions of cytidine analogs with antimicrobial and anticancer properties. *In Silico Pharmacology*, *9*, 1-24. https://doi.org/10.1007/s40203-021-00102-0.
49. Rehmany, A. P., Grenville, L. J., Gunn, N. D., Allen, R. L., Paniwnyk, Z., Byrne, J., & Beynon, J. L. (2003). A

genetic interval and physical contig spanning the *Peronospora parasitica* (At) avirulence gene locus ATR1Nd. *Fungal Genetics and Biology*, *38*(1), 33-42. https://doi.org/10.1016/S1087-1845(02)00515-7.
50. Ribera, A. E., & Zuñiga, G. (2012). Induced plant secondary metabolites for phytopatogenic fungi control: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *12*(4), 893-911. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012005000040.
51. Rigotti, S., Viret, O., & Gindrat, D. (2003). Fungi from symptomless strawberry plants in Switzerland. *Phytopathologia Mediterranea*, *42*(1), 85-88.
52. Sajjadi, S. A., & Assemi, H. (2014). Study of antifungal activity of plant extracts of catmint, tobacco and thyme on tobacco pathogens fungal. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *3*(1), 41-52.
53. Sánchez-Gómez, T., Santamaría, Ó., Martín-García, J., & Poveda, J. (2024). Seed extracts as an effective strategy in the control of plant pathogens: Scalable industry bioactive compounds for sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 103332. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103332.
54. Sareena, S., Poovannan, K., Kumar, K. K., Raja, J. A. J., Samiyappan, R., Sudhakar, D., & Balasubramanian, P. (2006). Biochemical responses in transgenic rice plants expressing a defence gene deployed against the sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Current Science*, *91* (11), 1529-1532.
55. Sepehrvand, A., Ezatpour, B., Tarkhan, F., Bahmani, M., Khonsari, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). Phytotherapy in fungi and fungal disease: A review of effective medicinal plants on important fungal strains and diseases. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *8*(11), 4473-4495. https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(11).4473-95.
56. Serag, A., Salem, M. A., Gong, S., Wu, J. L., & Farag, M. A. (2023). Decoding metabolic reprogramming in plants under pathogen attacks, a comprehensive review of emerging metabolomics technologies to maximize their applications. *Metabolites*, *13*(3), 424. https://doi.org/10.3390/metabo13030424.
57. Shahriari, D., Alibeyk Tehrani, N., & Maleki, M. (2017). The inhibitory effect of *Thymus vulgaris* and *Carum copticum* essential oil on the growth of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of potato stem canker *in vitro* and greenhouse conditions. *Applied Plant Protection*, *6*(2), 97-107.
58. Shalaby, S., & Horwitz, B. A. (2015). Plant phenolic compounds and oxidative stress: Integrated signals in fungal–plant interactions. *Current genetics*, *61*, 347-357. https://doi.org/10.1007/s00294-014-0458-6.
59. Soltani, J., & Moghaddam, M. S. H. (2014). Diverse and bioactive endophytic Aspergilli inhabit *Cupressaceae* plant family. *Archives of Microbiology*, *196*, 635-644. https://doi.org/10.1007/s00203-014-0997-8.
60. Stepanova, M., & Korzhikova-Vlakh, E. (2022). Modification of cellulose micro-and nanomaterials to improve properties of aliphatic polyesters/cellulose composites: A review. *Polymers*, *14*(7), 1477. https://doi.org/10.3390/polym14071477.
61. Sudhakar, N., Nagendra-Prasad, D., Mohan, N., & Murugesan, K. (2007). Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. *PKM1* (tomato) against cucumber mosaic virus by using ozone. *Journal of Virological Methods*, *139*(1), 71-77. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.09.013.
62. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, *24*(8), 1596-1599. https://doi.org/10.1093/molbev/msm092
63. Verma, P. K., Verma, S., Pandey, N., & Chakrabarty, D. (2021). Antimicrobial products from plant biodiversity. *Bioprospecting of Plant Biodiversity for Industrial Molecules*, *8* (1). 153-173. https://doi.org/10.1002/9781119718017.ch8.
64. Younesi, S., Salehzadeh, M., & Soleymani Pari, M. J. (2023). Control of strawberry gray mold fungus with combined application of different species of *Trichoderma* and salicylic acid. *Journal of Microbial World*, *16*(1), 88-72.